

Remoção da atividade estrogênica por cloração¹

Removal of estrogenic activity by chlorination

João Monteiro Neto²

Juliana Palermo Evangelista dos Santos³

Taiza dos Santos Azevedo⁴

Thamara Costa Resende⁵

Nayara Coury de Rezende⁶

Ann Honor Mounteer⁷

Sue Ellen Costa Bottrel⁸

Renata de Oliveira Pereira⁹

DOI: <https://doi.org/10.34019/2179-3700.2019.v19.29920>

Resumo

Encontrados em diferentes matrizes ambientais devido à ineficiência de remoção em estações de tratamento de esgoto, os denominados micropoluentes são alvos de estudos por causarem diversos efeitos adversos à saúde do ser humano, mesmo em baixas concentrações. São exemplos os hormônios, destacando-se o 17- β -estradiol (E2), o qual tem elevado potencial estrogênico e foi encontrado em mananciais superficiais no Brasil. Dessa maneira, o presente estudo tem como objetivo avaliar a cloração como modo de remoção da atividade estrogênica do E2 em diferentes condições de dose de cloro e tempo de contato previstos em norma, bem como quantificar a atividade estrogênica remanescente através do ensaio Yeast Estrogen Screen (YES). Para a dose de cloro de 0,5 mg.L⁻¹ e tempo de contato de 30 minutos, a remoção da atividade estrogênica foi de 98,6 \pm 1,1%; e para a maior dose, de 5 mg.L⁻¹, obteve-se 99,5 \pm 0,1% de remoção no mesmo tempo. Avalia-se que tanto a dose quanto o tempo de contato foram significativos na remoção da atividade estrogênica. Mais estudos em busca de condições ótimas de cloração, identificação de subprodutos da reação e avaliação da remoção em diferentes

¹ Trabalho premiado no Seminário de Iniciação Científica da UFJF em 2018.

² Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica e Tecnológica (PROBIC); do Programa Institucional Voluntário de Iniciação Científica (PROVOQUE); e do Programa de Bolsas de Iniciação Científica (BIC), da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

³ Bolsista do Programa Institucional Voluntário de Iniciação Científica (PROVOQUE); e Voluntariado de

⁵ Bolsista do Programa Institucional Voluntário de Iniciação Científica (PROVOQUE); e do Programa de Bolsas de Iniciação Científica (BIC) da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

⁶ Voluntariado de Iniciação Científica (VIC), da UFJF.

⁷ Professora colaboradora da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

⁸ Professora coordenadora da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF).

⁹ Professora orientadora da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Endereço profissional: Universidade Federal de Juiz de Fora, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Campus Universitário, Plataforma 4, Centro de Tecnologia. Juiz de Fora, MG - Brasil - CEP: 36036-330. E-mail: renata.pereira@ufjf.edu.br.



tecnologias de tratamento são necessários.

Palavras-chave: 17 β - estradiol. Hormônios. Tratamento de água. YES.

Abstract

Micropollutants are being identified in several environmental matrices due to inefficiency of its removal in wastewater treatment. These substances are motivating scientific studies, since it can cause undesirable effects on human health if ingested, even in low concentrations. The hormone 17- β -estradiol (E2) is an example of micropollutant with great estrogenic potential and common identification in Brazilian water sources. This study evaluates the removal of estrogenic activity caused by E2 in water using different conditions of chlorination (varying dosages and contact times according to limits imposed by Brazilian regulations on water treatment), identifying the residual estrogenic activity using the Yeast Estrogenic Screen assay (YES). The removal efficiency reached $98,6 \pm 1,1\%$ and $99,5 \pm 0,1\%$ using a dosages of $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ and 5 mg.L^{-1} respectively with a fixed 30 minutes contact time. Both dosage and contact time were related with the removal efficiency. Further research in optimum conditions of chlorination, formation of byproducts and different treatment technologies are needed.

Keywords: 17- β -estradiol. Hormones. Water treatment. YES.

1 INTRODUÇÃO

Devido à crescente preocupação com a preservação de mananciais, na última década observou-se crescente número de estudos sobre detecção e quantificação de micropoluentes, isto é, substâncias encontradas em diferentes matrizes hídricas com baixas concentrações e capacidade de interferir na saúde humana mesmo nessas condições (RODRIGUES et al., 2018). Dentre eles, destacam-se os desreguladores endócrinos (DE), substâncias que se assemelham àquelas naturalmente presentes no sistema endócrino de vertebrados, imitando ou bloqueando suas ações (PAMPLONA-SILVA et al., 2018; PONTELLI et al., 2016).

Estudos em todo o mundo mostram inúmeros efeitos adversos causados pelos DE, tanto à saúde humana quanto à de animais. Segundo a United Nations Environment Programme - UNEP(2012) podem-se citar interferências na reprodução, tais como câncer de próstata e infertilidade; maior suscetibilidade a infecções; maior incidência de doenças cardiopulmonares; e perturbações no sistema nervoso. Ainda, há menção de menor reprodutibilidade de aves, peixes e moluscos.

Hormônios naturais e sintéticos como a estrona (E1), o 17- β -estradiol (E2) e o 17- α -etinilestradiol (EE2) são exemplos de DE comumente encontrados em corpos d'água (RESENDE et al., 2017). Tal fato pode ser atribuído à ineficiente remoção destes durante o tratamento de esgoto convencional, além do fato de alguns serem produzidos naturalmente e excretados diariamente de maneira contínua nos efluentes domésticos

(BILA e DEZOTTI, 2007; NASCIMENTO et al., 2015).

Dentre os hormônios supracitados destaca-se o E2, devido ao fato de apresentar potencial estrogênico relativo oito vezes maior do que do E1, por exemplo (GUYTON e HALL, 2002 apud SCHLEICHER, 2013). Resende et al.(2017) constataram que há presença desses hormônios em mananciais superficiais do Brasil, sendo que nos dados de ocorrência tratados pelos autores, o E2 apresentou concentração mediana de 37,4 ng.L⁻¹. Esse fato é preocupante uma vez que as águas superficiais serão encaminhadas às Estações de Tratamento de Água (ETA) para abastecer a população.

A cloração é o método de desinfecção mais utilizado no tratamento de águas no país, devido à sua disponibilidade a baixo custo, se comparado com outros desinfetantes; eficiência; e capacidade de conferir residual nas redes de abastecimento, entre outros fatores (LIBÂNIO, 2008). O cloro, além disso, tem excelente poder oxidante e também pode ser utilizado para outros fins, tal como a remoção de micropoluentes, uma vez que etapas anteriores do processo de tratamento de água convencional não se mostraram suficientes para essa finalidade (SASAKI, 2012).

Existem diversos métodos que podem ser utilizados para a quantificação da atividade estrogênica de uma amostra. O bioensaio Yeast Estrogen Screen (YES) é uma análise *in vitro* com efeito sinérgico, de resposta rápida e fácil visualização devido à uma mudança na coloração do meio, no caso da presença de atividade estrogênica (MARTINS et al., 2015; MONTAGNER et al., 2017). A determinação da atividade estrogênica também é favorável por levar em consideração todos os compostos que a causam em dada amostra, sendo uma importante ferramenta de monitoramento ambiental.

Desse modo, o objetivo do presente trabalho é avaliar a remoção da atividade estrogênica em água do composto 17- β -estradiol, através de ensaios de cloração, quantificando-a por meio do ensaio YES.

2 METODOLOGIA

2.1 Ensaios de cloração

A água utilizada nos experimentos foi proveniente de manancial subterrâneo da região de Torreões (MG), cuja qualidade assemelha-se a de uma água em tratamento, após etapa de filtração.

O padrão analítico do E2 foi obtido da Sigma Aldrich[®], a partir do qual foi produzida

uma solução em etanol absoluto de concentração inicial igual a $1 \mu\text{g.L}^{-1}$, armazenada a 4°C . Os ensaios de cloração foram realizados em escala de bancada, em batelada, com tempo de contato de 30 minutos e doses de cloro de 0,5 e 5 mg.L^{-1} . Ensaios de cloração complementares com tempos de contato de 1 e 15,5 minutos em diferentes combinações e com as doses de cloro entre 0,5 e 5 mg.L^{-1} foram realizados para obtenção de um gráfico de contorno da remoção da atividade estrogênica na cloração utilizando o software Minitab 18®.

Nos ensaios de cloração foi utilizada uma solução de hipoclorito de sódio da marca Sigma Aldrich®, contendo 10–15% de cloro. A concentração de cloro foi calibrada através da análise de cloro total, imediatamente antes dos ensaios, devido à sua alta variação com a temperatura e com a própria solução. Foram feitas amostragens antes e após os ensaios de cloração, em triplicata, com monitoramento dos seguintes parâmetros: temperatura, pH, condutividade elétrica, turbidez, cor aparente, cloro livre e cloro total. As metodologias são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Variáveis utilizadas para realizar a caracterização físico-química da água com seus respectivos métodos de análise

Variável	Método	Equipamento	Referência
pH	4500-H+B	HANNA, MODELO HI 8424	APHA, AWWA e WEF (2005)
Alcalinidade	2320B	HANNA, MODELO HI 8424	
Cor aparente	2120	POLICONTROL, MODELO AQUACOLOR	
Condutividade	2510	GEHAKA, CG 1800	
Turbidez	2130B	DEL LAB, DLT WV	

Fonte: autoria própria

2.2 Extração em fase sólida (SPE)

Das amostras obtidas no ensaio de cloração, bem como amostras anteriores a estas, alíquotas de 100 mL foram submetidas a um procedimento de SPE utilizando cartuchos Agilent® C18 SampliQ (500 mg, 6 mL), segundo metodologia de Pereira (2011).

Para o condicionamento dos cartuchos, foram adicionados 6 mL de hexano, 2 mL de acetona, 6 mL de metanol e 10 mL de água deionizada ajustada a pH 3, nessa ordem. Ao término dessa etapa, foi realizada a passagem dos 100 mL de amostra para posterior *clean up*, procedimento que consiste em adicionar aos cartuchos uma solução de 10 mL de metanol e água deionizada, em proporção 1:9 e posterior secagem sob pressão de

vácuo, durante 10 minutos.

Ainda, o analito foi eluído em 4 mL de acetona e evaporado em fluxo de gás nitrogênio. Por fim, as amostras foram ressuspensas em 1 mL de etanol, dessa maneira concentrando-as em 100 vezes.

2.3 Ensaio Yeast Estrogen Screen (YES)

Para a quantificação da atividade estrogênica, foi feito o ensaio YES, de acordo com Bila (2005), no qual uma linhagem da levedura *Saccharomyces cerevisiae* contendo o receptor de estrógeno humano é capaz de metabolizar um composto denominado clorofenol vermelho- β -D-galactopiranosida (CPRG) – adicionado ao meio de análise, promovendo mudança de coloração do amarelo para o vermelho, no caso de presença de atividade estrogênica.

Essa análise *in vitro* foi feita em placas de 96 poços, sendo cada amostra analisada em duplicata, com diluições seriais de 1:2 em etanol absoluto, intercaladas com fileiras de branco, o qual consiste em apenas etanol e meio de análise. Para a confecção deste, foram adicionados 25 mL de meio de cultivo, 25 μ L da levedura e 200 μ L de CPRG em solução de 10 mg.mL⁻¹ em etanol absoluto. Também foi preparada uma solução padrão de E2 em etanol absoluto com concentração igual a 54,48 mg.L⁻¹, para posterior preparo da solução da curva padrão do ensaio com concentração inicial igual a 54,48 μ g.L⁻¹.

As placas foram posteriormente seladas e agitadas em agitador orbital, ajustado a 100 rpm por dois minutos, para então serem encubadas a 32 °C após 72 horas. No fim desse tempo, ocorreu a leitura das placas por espectrofotometria, nos comprimentos de onda de 539 e 620 nm. Os resultados obtidos foram calculados por ajuste sigmoidal, obtendo-se o valor da atividade estrogênica em equivalente de estradiol (E2EQ).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do monitoramento dos parâmetros físico-químicos são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 -Monitoramento dos parâmetros físico-químicos da água durante os experimentos e da concentração de cloro livre e total ao final dos experimentos de cloração (média \pm desvio padrão; n = 3).

Dose de cloro e tempo de contato	pH	Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	Turbidez (NTU)	Cor (uC)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Cloro livre (mg.L^{-1})	Cloro total (mg.L^{-1})
0 mg.L^{-1} ; 0 min	8,0 \pm 0,1	21,7 \pm 1,4	0,1 \pm 0,0	12,6 \pm 0,4	27,0 \pm 0,0	-	-
0,5 mg.L^{-1} ; 30 min	7,7 \pm 0,3	25,9 \pm 0,6	3,2 \pm 0,4	13,2 \pm 0,7	29,3 \pm 0,5	0,2 \pm 0,1	0,3 \pm 0,0
0 mg.L^{-1} ; 0 min	6,9 \pm 0,1	56,1 \pm 6,6	2,3 \pm 0,3	11,9 \pm 0,1	25,0 \pm 0,0	-	-
5 mg.L^{-1} ; 30 min	7,4 \pm 0,1	52,4 \pm 2,6	3,5 \pm 0,7	12,7 \pm 0,8	26,8 \pm 0,7	4,3 \pm 0,1	5,0 \pm 0,0

n = número de amostras.

Fonte: autoria própria.

Observa-se na Tabela 2 que os parâmetros analisados estão de acordo com o padrão de potabilidade brasileiro, com exceção da turbidez (BRASIL, 2017). Os valores encontrados para esse parâmetro na maior parte das amostras de água são ligeiramente maiores em comparação com água pós-filtração em ETA convencional, etapa na qual o valor máximo permitido (VMP) é de 0,5 NTU. O valor, porém, está dentro do VMP para 5% das amostras de água subterrânea com desinfecção. Os valores de cloro livre encontrados no fim dos experimentos de cloração mostram que as concentrações de cloro utilizadas não foram limitantes no experimento.

A Tabela 3 resume os dados de remoção e de atividade estrogênica remanescente após a cloração em cada um dos experimentos realizados. A remoção de atividade estrogênica alcançada nos experimentos de cloração atingiu uma média de $98,6 \pm 1,1\%$ com a dose de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de cloro. Já com a dose superior de 5 mg.L^{-1} de cloro, a remoção média foi de $99,5 \pm 0,1\%$.

Tabela 3 -Atividade estrogênica remanescente e sua remoção nos experimentos de cloração realizados (tempo de contato de 30 minutos)

Dose de cloro (mg.L^{-1})	Concentração inicial (ng E2EQ.L^{-1})	Atividade estrogênica remanescente (ng E2EQ.L^{-1})		Remoção (%)	
		Triplicatas	Média \pm DP	Triplicatas	Média \pm DP
0,5	1117,5	30,3	15,7 \pm 12,8	97,3	98,6 \pm 1,1
		6,7		99,4	
		10,2		99,1	
5,0	1252,0	5,8	6,1 \pm 1,6	99,5	99,5 \pm 0,1
		4,7		99,6	
		7,8		99,4	

Fonte: autoria própria.

Os dados de remoção de atividade estrogênica alcançados são compatíveis com a remoção do composto E2 na cloração, como avaliado em trabalhos que utilizaram técnicas de cromatografia e espectrometria de massas e reportaram eficiência acima de 97% com doses de cloro de 1 a 5 mg.L⁻¹ e tempo de contato de 10 a 30 minutos (ALUM et al., 2004; NAKAMURA et al., 2007; PEREIRA et al., 2011). Há, porém, a possibilidade de formação de subprodutos no processo de oxidação dos compostos estrogênicos que ainda apresentem atividade estrogênica, sendo alguns deles recalcitrantes no tratamento por cloração (HU et al., 2003). De acordo com Bastos et al. (2009), isso pode apresentar risco de efeitos adversos na saúde de lactentes (peso corporal de 5 kg, consumo de água de 0,75 L.d⁻¹), crianças (peso corporal de 10 kg e consumo de água de 1 L.d⁻¹) e adultos (peso corporal de 60 kg e consumo de água de 2 L.d⁻¹) no consumo de água com concentrações de E2 maiores que 5,47; 8,2 e 24,6 ng.L⁻¹, respectivamente ao longo da vida (foi considerada a situação mais crítica citada no estudo em que considera o fator de alocação de 0,1).

No entanto, apesar dos valores residuais de atividade estrogênica nos estudos de remoção com a cloração encontrados estarem acima do reportado no estudo de Bastos et al. (2009), deve-se considerar que a eficiência de remoção foi elevada, atingindo 99,5%. Entretanto, como a concentração inicial de E2 utilizada nos ensaios, considerando valores reportados para mananciais superficiais, foi elevada (1 µg.L⁻¹ de E2), e que esses compostos causam efeitos em baixas concentrações (ng.L⁻¹), o residual de atividade estrogênica ainda ficou alto para as condições utilizadas. Dessa maneira, recomenda-se realizar a cloração com concentrações iniciais menores de E2 para verificar se a eficiência de remoção permanecerá elevada e se de fato haverá um residual de atividade estrogênica que possa trazer riscos à saúde.

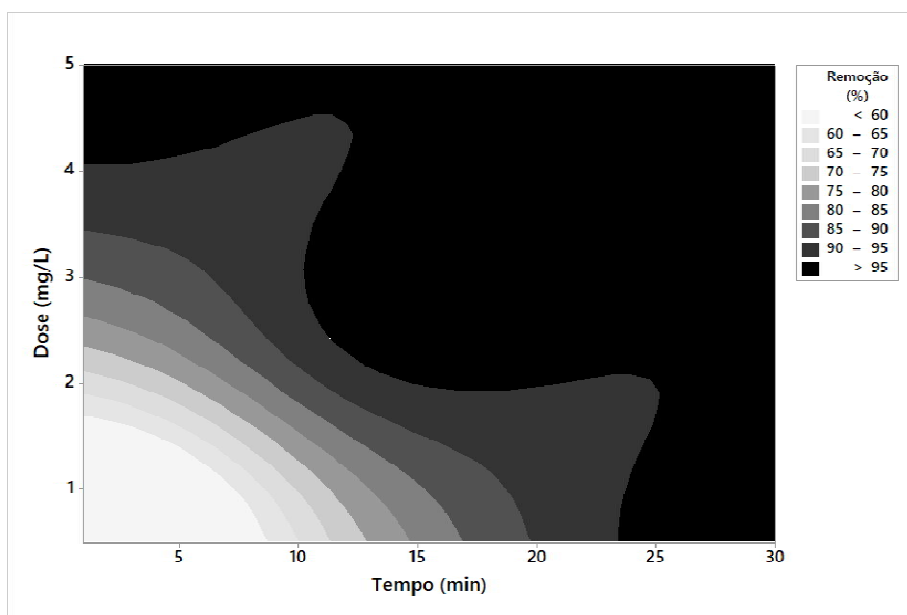
Assim, é necessário que sejam identificados os principais subprodutos gerados em estações de tratamento e que haja a avaliação das condições de cloração, resultando na menor formação destes e no menor risco associado com o consumo de água tratada.

De acordo com os dados de remoção da atividade estrogênica gerada pelo 17-β-estradiol com doses de cloro entre 0,5 e 5 mg.L⁻¹ e tempos de contato entre 1 minuto e 30 minutos, foi possível gerar um gráfico de contorno com a remoção da atividade estrogênica pela cloração (Gráfico 1). Observa-se que há remoção acima de 95% em condições de doses e tempo de contato elevados e intermediários. Há o aumento

progressivo de remoção conforme ambos os fatores aumentam. Remoções menores que 80% ocorreram com combinação de doses abaixo de $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ e tempo de contato menor que 15 minutos.

Gráfico 1 – Gráfico de contorno da remoção de atividade estrogênica na cloração.
Concentração inicial:

$1 \mu\text{g.L}^{-1}$ de E2



Fonte: autoria própria.

Ressalta-se a necessidade de mais pesquisas em torno de diferentes condições de cloração e identificação de subprodutos, bem como a avaliação da eficiência de diferentes tecnologias relativas ao tratamento de água na remoção da atividade estrogênica.

4 CONCLUSÃO

A remoção de atividade estrogênica na água tem ganhado interesse da comunidade científica pelo risco associado com o seu consumo e o aumento da concentração de compostos estrogênicos em águas superficiais e subterrâneas. Neste trabalho foi possível observar que a remoção da atividade estrogênica na cloração pode ser insuficiente para remoção de riscos à saúde humana, uma vez que foram observadas concentrações finais de até $15,7 \pm 12,8 \text{ ng E2EQ.L}^{-1}$ na água, utilizando condições de cloração na faixa recomendada em norma. Foi possível elaborar um gráfico de contorno

da remoção da atividade estrogênica a partir das condições estudadas, no qual pode-se observar a tendência de aumento da remoção da atividade estrogênica de acordo com o aumento de ambas as variáveis de contorno monitoradas na cloração: dose de cloro e tempo de contato. Contudo, verifica-se a necessidade de estudo com concentrações mais baixas de E2 na ordem de ng.L^{-1} , que são comumente encontradas nos mananciais.

5 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do projeto e das bolsas. À Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa (PPGP/UFJF).

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENT FEDERATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20. ed. Washington D.C.: American Public Health Association, 2005.

ALUM, A. et al. Oxidation of Bisphenol A, 17β -Estradiol, and 17α -Ethinyl Estradiol and Byproduct Estrogenicity. **Environmental Toxicology**, v. 19, n. 3, p. 257-264, 2004.

BASTOS, R. K. X.; BEVILACQUA, P. D.; MIERZWA, J. C. Análise de risco aplicada ao abastecimento de água para consumo humano. In: PÁDUA, V. L. P. (Coord.). **Remoção de microrganismos emergentes e microcontaminantes orgânicos no tratamento de água para consumo humano**. Belo Horizonte: Ed. ABES, 2009. p. 327-360.

BILA, D. M. **Degradação e remoção da atividade estrogênica do desregulador endócrino 17β -estradiol pelo processo de ozonização**. 2005. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 30, p. 651-666, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação Nº 5. Anexo XX de 28 de setembro de 2017. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 2017.

HU, J. et al. Products of aqueous chlorination of 17α -estradiol and their estrogenic activities. **Environmental Science Technology**, v. 37, p. 5665-5670, 2003.

LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água**. 3. ed. Belo Horizonte: Átomo, 2008.

MARTINS, H.; FRANCHINI, S. E.; FIGUEIREDO, C. A. C. Disruptores endócrinos e

hormônios sexuais: os danos causados pela exposição a esses contaminantes. **Visão Acadêmica**, v. 16, n. 2, 2015.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094-1110, 2017.

NAKAMURA, H. et al. Formation of chlorinated estrones via hypochlorous disinfection of wastewater effluent containing estrone. **Chemosphere**, v. 66, p. 1441-1448, 2007.

NASCIMENTO, L. X.; ARAUJO, R. T.; ALVAREZ, L. D. G. Persistent Organic Pollutants: Impacts and Solutions to Human Health and Environment. **Ciencia y Tecnología**, n. 24, p. 28-34, 2015.

PAMPLONA-SILVA, M. T. et al. Estrogenic Compounds: Chemical Characteristics, Detection Methods, Biological and Environmental Effects. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 229, p. 1-27, 2018.

PEREIRA, R. O. **Formação de subprodutos do estrona e 17 β -estradiol na oxidação utilizando cloro e o ozônio em água**. 2011. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

PEREIRA, R. O. et al. Removal of estrogens through water disinfection processes and formation of by-products. **Chemosphere**, v. 82, n. 6, p. 789-799, 2011.

PONTELLI, R. C. N.; NUNES, A. A.; OLIVEIRA, S. V. W. B. Impacto na saúde humana de disruptores endócrinos presentes em corpos hídricos: existe associação com a obesidade? **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 21, p. 753-766, 2016.

RESENDE, T. C. et al. Estudo comparativo entre as concentrações de hormônios reportados em matrizes ambientais aquosas no Brasil e no exterior. **Anais...** 29 Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental Associação Brasileira de Engenharia Ambiental e Sanitária (ABES) – Feira Nacional de Meio Ambiente (FENASAN). São Paulo, 2017.

RODRIGUES, J. S. et al. Presença de fármacos e hormônios na água: uma análise cienciométrica. **Research, Society and Development**, v. 7, n. 6, p. 1-22, 2018.

SASAKI, T. H. **O estado da arte da remoção de fármacos e perturbadores endócrinos em estações de tratamento de água (ETAs) e estações de tratamento de esgoto (ETEs)**. Trabalho de Graduação em bacharel em Engenharia Ambiental, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

SCHLEICHER, A. T. **Remoção de estrona, estradiol, etinilestradiol e bisfenol-a por meio de nanofiltração aplicada ao tratamento avançado de águas para consumo humano**. 2013. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME (UNEP). **State of the Science of**

Endocrine Disrupting Chemicals. 2012. Disponível em:

<http://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/12223/State%20of%20the%20Science%20of%20EDCs%20Summary%20Report%202012.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Acesso em: 1 fev. 2019.